

**GEÄNDERTE ANSPRÜCHE**

[beim Internationalen Büro am 8 April 2004 (08.04.04) eingegangen,  
ursprüngliche Anspruch 1- 37 durch neue Ansprüche 1-34 ersetzt]

**AMENDED CLAIMS**

[received by the International Bureau on 08 April 2004 (08.04.04);  
original claims 1- 37 replaced by new claims 1-34]

1. Vorrichtung zur Behandlung von biologischem Material, zumindest bestehend aus einer nach außen zumindest verschließbaren Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75), welche zumindest eine Elektrode (3, 4, 28, 29, 47, 48, 54) zur Erzeugung eines elektrischen Feldes aufweist, die mit einem Innenraum (2, 26, 46, 58, 66) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) in Kontakt steht, der zur Aufnahme des biologischen Materials vorgesehen ist, und welche zumindest eine Zuleitung (7, 36, 49, 50, 52, 56, 67, 76) aufweist, die in räumlicher Nähe zu der Elektrode (3, 4, 28, 29, 47, 48, 54) mindestens eine Öffnung (8, 37, 53) aufweist, wobei mindestens ein durch eine Wandung (17) gebildetes Behältnis (9, 32) zur Aufnahme einer Lösung über die Zuleitung (7, 36, 49, 50, 52, 56, 67, 76) mit dem Innenraum (2, 26, 46, 58, 66) zumindest verbindbar ist, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Innenraum (2, 26, 46, 58, 66) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) und das Behältnis (9, 32) durch eine Trenneinheit (11) voneinander getrennt sind, durch welche die Lösung selektiv in den Innenraum (2, 26, 46, 58, 66) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) einbringbar ist.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Zuleitung (7, 36, 49, 50, 52, 56, 67, 76) kanalförmig ausgebildet ist.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass sich der innere Durchmesser der Zuleitung (7, 36, 49, 50, 52, 56, 67, 76) in Richtung der Elektrode (3, 4, 28, 29, 47, 48, 54) verringert.
4. Vorrichtung nach Anspruch 1, 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Trenneinheit (11) ein Ventil ist oder dass die Trenneinheit (11) eine fragile Membran ist, die unter Druck zerstörbar ist.
5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) nach außen zumindest keimdicht verschlossen ist.

6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die das Behältnis (9, 32) bildende Wandung (17) zumindest teilweise aus einem elastischen und/oder deformierbaren Material besteht.
7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Behältnis (9, 32) an die Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) zumindest anschließbar ist, beispielsweise einstückig mit dieser verbunden oder über eine Anschlussvorrichtung (30, 31), vorzugsweise einen Luer-Anschluss, an die Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) anschließbar ist.
8. Vorrichtung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) und das Behältnis (9, 32) eine nach außen zumindest keimdicht verschlossene Einheit bilden.
9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) zumindest einen, vorzugsweise mit einer Kanüle (14, 33, 41), perforierbaren und selbstverschließenden Wandbereich (13, 20) aufweist und/oder mit zumindest einem Zugang mit einer Anschlussvorrichtung (30, 31), vorzugsweise einem Luer-Anschluss, versehen ist.
10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) einen geringen Querschnitt aufweist und/oder schlangenförmig und/oder spiralförmig ausgebildet ist.
11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) durch mindestens eine Trenneinrichtung in mehrere Teilbereiche unterteilt ist.
12. Vorrichtung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Trenneinrichtung aus einem Ventil und/oder einer Filtereinheit (5) besteht.

13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass ein Behälter (12, 40) an eine Ausgangsöffnung (51) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) zumindest anschließbar ist, beispielsweise einstückig mit dieser verbunden oder über eine Anschlussvorrichtung (30, 31), vorzugsweise einen Luer-Anschluss, an die Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) anschließbar ist.
14. Vorrichtung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) und dem Behälter (12, 40) eine Trennvorrichtung (61, 64) angeordnet ist.
15. Vorrichtung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Trennvorrichtung (61, 64) aus einem Ventil und/oder einer Filtereinheit (5) besteht.
16. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Behälter (12, 40) zumindest einen, vorzugsweise mit einer Kanüle (14, 33, 41), perforierbaren und selbstverschließenden Wandbereich (13, 20) aufweist und/oder mit zumindest einem Ausgang mit einer Anschlussvorrichtung (30, 31), vorzugsweise einem Luer-Anschluss, versehen ist.
17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass der Behälter (12, 40) eine Spritze oder ein Infusionsbeutel ist.
18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 13 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Behälter (12, 40) und die Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) eine nach außen keimdicht verschlossene Einheit bilden.
19. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 9 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass der perforierbare, selbstverschließende Wandbereich (13, 20) aus einem Kunststoffmaterial, beispielsweise einem Silicon, einem Elastomer oder Gummi, besteht.

20. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass die Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) zwei gegenüberliegende Elektroden (3, 4, 28, 29, 47, 48, 54) aufweist, die jeweils mit dem Innenraum (2, 26, 46, 58, 66) in Kontakt stehen, oder dass eine weitere Elektrode (3, 4, 28, 29, 47, 48, 54) in den Innenraum (2, 26, 46, 58, 66) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) einführbar ist.
21. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass die Elektrode (3, 4, 28, 29, 47, 48, 54) oder die Elektroden (3, 4, 28, 29, 47, 48, 54) aus einem leitfähigen Kunststoffmaterial, vorzugsweise einem mit einem leitfähigen Material dotierten Kunststoff, besteht.
22. Verfahren zur Behandlung von biologischem Material, bei dem das biologische Material in den Innenraum (2, 26, 46, 58, 52, 66) einer nach außen zumindest verschließbaren Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) eingebracht wird, welche zumindest eine Elektrode (3, 4, 28, 39, 47, 48, 54) aufweist, die mit dem Innenraum (2, 26, 46, 58, 52, 66) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) in Kontakt steht und zur Erzeugung eines elektrischen Feldes vorgesehen ist, welches nach dem Einbringen des biologischen Materials in dem Innenraum (2, 26, 46, 58, 52, 66) erzeugt wird durch Anlegen einer Spannung an die Elektrode (3, 28, 47, 54) und eine weitere mit dem Innenraum (2, 26, 46, 58, 52, 66) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) in Kontakt stehende Elektrode (4, 29, 48), wobei das biologische Material nach dem Erzeugen des elektrischen Feldes mittels einer Lösung (10, 35), die über eine Zuleitung (7, 36, 49, 50, 52, 56, 67, 76) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) an zumindest einer Elektrode (3, 4, 28, 29, 47, 48, 54) entlang geleitet wird, annähernd vollständig aus dem Innenraum (2, 26, 46, 58, 66) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) ausgespült wird, **gekennzeichnet durch** das Öffnen einer Trenneinheit (11) durch mechanische Manipulation von außen, wobei die Trenneinheit (11) den Innenraum (2, 26, 46, 58, 66) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) von einem die Lösung enthaltenden Behältnis (9, 32) trennt, welches durch die Zuleitung (7, 36, 49, 50, 52, 56, 67, 76) mit der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) verbindbar oder verbunden ist.

23. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass die Lösung mit hoher Fließgeschwindigkeit an der Elektrode (3, 4, 28, 29, 47, 48, 54) entlang geleitet wird.
24. Verfahren nach Anspruch 22 oder 23, dadurch gekennzeichnet, dass die Lösung an der Kathode entlang geleitet wird.
25. Verfahren nach Anspruch 22, 23 oder 24, dadurch gekennzeichnet, dass das biologische Material mittels einer Spritze oder Ähnlichem durch einen perforierbaren, selbstverschließenden Wandbereich (13, 20) in den Innenraum (2, 26, 46, 58, 66) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) eingebracht wird.
26. Verfahren nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass die Trenneinheit (11) ein Ventil ist, welches durch die mechanische Manipulation von außen zumindest in eine Richtung geöffnet wird, oder dass die Trenneinheit (11) eine fragile Membran ist, die durch von außen ausgeübten Druck zerstört wird.
27. Verfahren nach einem der Ansprüche 22 bis 26, gekennzeichnet durch das Aufnehmen des biologischen Materials und der Lösung in einem Behälter (12, 40), der an eine Ausgangsöffnung (51) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) zumindest anschließbar ist.
28. Verfahren nach einem der Ansprüche 22 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass ein die Lösung enthaltendes Behältnis (9, 32) zumindest teilweise durch eine elastische und/oder deformierbare Wandung (17) gebildet ist und auf diese Wandung (17) von außen ein Druck ausgeübt wird.
29. Verfahren nach einem der Ansprüche 22 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass das biologische Material durch eine zwischen der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) und dem Behälter (12, 40) angeordnete Trennvorrichtung (61, 64), insbesondere ein Ventil und/oder eine Filtereinheit (5), in den Behälter (12, 40) gespült wird.

30. Verfahren nach einem der Ansprüche 26 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass das behandelte biologische Material mittels einer Spritze oder Ähnlichem durch einen perforierbaren, selbstverschließenden Wandbereich (13, 20) des Behälter (12, 40)s aus diesem entnommen wird.
31. Verfahren nach einem der Ansprüche 22 bis 30, dadurch gekennzeichnet, dass das biologische Material lebende Zellen, vorzugsweise eukaryontische Zellen, Zellderivate, subzelluläre Partikel und/oder Vesikel sind, in welche durch das Erzeugen des elektrischen Feldes biologisch aktive Moleküle, vorzugsweise Nukleinsäuren, eingebracht werden, oder die durch das Erzeugen des elektrischen Feldes fusioniert werden.
32. Verfahren nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, dass die biologisch aktiven Moleküle in einer Pufferlösung gelöst sind und vor dem Einbringen des biologischen Materials in den Innenraum (2, 26, 46, 58, 66) der Kammer (1, 25, 45, 55, 65, 75) eingebracht werden.
33. Verfahren nach Anspruch 31 oder 32, dadurch gekennzeichnet, dass das Einbringen der biologisch aktiven Moleküle in lebende Zellen mit einer Stromdichte von bis zu  $120 \text{ A/cm}^2$ , vorzugsweise  $80 \text{ A/cm}^2$ , und/oder durch einen Spannungsimpuls mit einer Feldstärke von 2 bis  $10 \text{ kV*cm}^{-1}$  und einer Dauer von 10 bis  $200 \mu\text{s}$  erreicht wird.
34. Verfahren nach Anspruch 33, dadurch gekennzeichnet, dass das Einbringen der biologisch aktiven Moleküle in die Zellen durch einen auf den Spannungsimpuls ohne Unterbrechung folgenden Stromfluss mit einer Stromdichte von 2 bis  $14 \text{ A/cm}^2$ , vorzugsweise  $5 \text{ A/cm}^2$ , und einer Dauer von 1 bis 100 ms, vorzugsweise 50 ms, erreicht wird.